



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

TÍTULO

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE
Plantago major “llantén” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
COMPARADO CON CIPROFLOXACINO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR:

GARCÍA GARCÍA PEDRO DANIEL

ASESOR:

MGTR. RODRÍGUEZ DÍAZ DAVID RENÉ

MGTR. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO – PERÚ

2019

DEDICATORIA

A MIS PADRES DANIEL y TERESA, por creer en mí y guiarme en cada etapa de mi vida.

A MI TÍA NARCISA, por haberme fomentado el deseo de superación y anhelo de triunfo en la vida.

A MI MADRINA LETICIA, por su apoyo incondicional, sus palabras de aliento y cada muestra de afecto brindada.

A MIS AMIGOS y COMPAÑEROS DE TRABAJO, que siempre estuvieron a mi lado y han formado parte de mi vida.

GARCÍA GARCÍA PEDRO DANIEL

AGRADECIMIENTO

A Dios

Este trabajo es para a ti mi Dios bendito porque gracias ti he logrado el sueño más grande de mi vida, ser profesional; gracias por guiarme y ayudarme durante mi carrera y estar conmigo en los momentos más difíciles de mi vida, brindándome fortaleza con su amor, sabiduría y paciencia. Sabiendo que en ti nada podría ser, eres quien me regalo el privilegio de la vida y me ofreció lo necesario para lograr mis metas.

A mis asesores

Por su acertada, valiosa y eficiente asesoramiento, por compartir sus conocimientos y experiencias. Por sabes escuchar y corregir mis errores, por inculcarme el espíritu de superación lo cual hizo posible la culminación de la presente tesis.

A la Universidad César Vallejo, mi alma mater, por brindarme los recursos, conocimientos y oportunidades para el desarrollo de mi carrera.

GARCÍA GARCÍA PEDRO DANIEL

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, GARCÍA GARCÍA PERO DANIEL con DNI 40104912, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Plantago major* "llantén" SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO.

Son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, Marzo del 2019.

GARCÍA GARCÍA PEDRO DANIEL

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: “EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Plantago major* “Ilantén” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, COMPARADO CON CIPROFLOXACINO”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

El Autor GARCÍA GARCÍA PEDRO DANIEL

ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES	
PÁGINA DEL JURADO	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.....	iv
PRESENTACIÓN	v
ÍNDICE	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	1
1.2. TRABAJOS PREVIOS.....	1
1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA	3
1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	6
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	6
1.6. HIPÓTESIS	7
1.7. OBJETIVOS	7
1.7.1. OBJETIVO GENERAL	7
1.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
II. MÉTODO.....	8
2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:	8
2.2. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN	8
2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA	10
2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD	10
2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS	11
2.6. ASPECTOS ÉTICOS:	11
III. RESULTADOS.....	12
IV. DISCUSIÓN	16
V. CONCLUSIONES.....	17
VI. RECOMENDACIONES.....	18
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
VIII. ANEXOS	21

RESUMEN

Se realizó un estudio experimental in vitro con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Plantago major* (Llantén) comparado con ciprofloxacino a la concentración de 5 µg, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Se realizaron cuatro diluciones del aceite esencial (100%, 75%, 50% y 25%) y un control neutro con DMSO; se realizaron 13 repeticiones por cada grupo de estudio. Se obtuvo que el aceite esencial de la hoja de *Plantago major* muestra halos de inhibición a partir de la dilución al 75 % (16.4 mm DS \pm 0.9 IC 95% 15-18) al 100% el halo de inhibición fue de 18.4mm DS \pm 1.0 IC 95% 17 - 20, valores no considerados como eficaces en relación al patrón del CLSI (>21mm), y no superan el halo de inhibición del ciprofloxacino (34.6 mm DS: \pm 0.9 IC 95% 33 – 36). El análisis estadístico ANOVA indicó que los resultados del estudio fueron altamente significativos ($p = 0.000$), al igual que la prueba de Tukey demostró que los grupos evaluados eran homogéneos y el grupo de ciprofloxacino tenía mayor efecto antibacteriano. Se observa que a mayor concentración del aceite esencial de *Plantago major*, el halo de inhibición aumenta. Se concluye que el aceite esencial de la hoja de *Plantago major* tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, pero menor que ciprofloxacino, pero se podrá utilizar como un medicamento coadyuvante en el tratamiento de *Staphylococcus aureus*.

Palabra claves: *Plantago major*, *Staphylococcus aureus*, ciprofloxacino, efecto antibacteriano.

ABSTRACT

An experimental in-vitro study was carried out in order to evaluate the antibacterial effect of essential oil of *Plantago major* (Plantain) leaf compared with ciprofloxacin in concentration of 5 µg on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Four dilutions were made of the essential oil (100%, 75%, 50% and 25%), and a neutral control with DMSO; 13 repetitions were performed in each study group. It was found that essential oil of *Plantago major* leaf shows zones of inhibition from dilution at 75 % (16.4 mm SD \pm 0.9 IC 95% 15-18), at 100% the zone of inhibition was 18.4 mm SD \pm 1.0 IC 95% 17 - 20, values not considered as effective in relation to the CLSI pattern (>21mm), and do not exceed the zone of inhibition of ciprofloxacin (34.6 mm SD: \pm 0.9 95% IC 33-36). The ANOVA statistical analysis indicated that the results of the study were highly significant ($p = 0.000$), and the Tukey-test showed that the evaluated groups were homogeneous and the ciprofloxacin group had greater antibacterial effect. It is observed that the higher the concentration of *Plantago major* essential oil, the greater the zone of inhibition. It is concluded that *Plantago major* leaf essential oil has an antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, but less than ciprofloxacin, though it can be used as a complementary drug in the treatment of *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *Plantago major*, *Staphylococcus aureus*, ciprofloxacin, antibacterial effect

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

En su informe anual de la Organización mundial de la salud (OMS), declaró que dos tercios aproximado de la población mundial dependen de las plantas medicinales para satisfacer sus necesidades de salud como solución en el primer nivel de atención¹.

A través de las vastas regiones de América, los antiguos pobladores han utilizado las diversas especies vegetales de aplicación humana, con fines medicinales, desde tiempos milenarios, se mencionan en escritos que el “Llantén” asociado con menestras como parte de las comidas, actúa contra el asma y la gota, entre otros males²

De otro lado, las hojas del llantén frescas uno de sus beneficios es desinfectar y curar las heridas, también favorece en el tratamiento para corregir anomalías de la piel como dermatitis, llagas, pústulas, entre otras. Se le atribuye estas propiedades ya que en su composición química contiene taninos, así como alantoína, sustancias con función cicatrizante y favorece el aumento de las células de la epidermis, respectivamente³.

Se han realizado estudios respecto a sus compuestos químicos y propiedades medicinales, llegando a elaborar algunos productos prácticos de usar como ungüento con propiedades antiinflamatorias, antihemolíticas, bactericidas y cicatrizantes; así también se llegó a preparar un té con propiedades similares. La actividad curativa de esta planta se basa en la interacción mutua de varias de las sustancias que la componen⁴.

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Teles DG. (Brasil, 2014) Estudió a *Punica granatum* y *Plantago major* (*P. major*) contra bacterias *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *E. coli* y su interacción con amoxicilina, se realizó la prueba de disco-difusión. En la prueba, se mostró que en el caso del *Staphylococcus aureus* se observó que el extracto de *P. major* intensificó la acción del extracto de *Punica granatum*, pues, cuando se analizan los halos, se percibió que éstos aumentaban de tamaño, cuando se aumenta la concentración de *P. major*, lo que se evidencia (Halos con una media de 15,3 mm), comparado con los discos de extracto

puro de *Punica granatum* (halos con promedio de 14,3 mm), indicando que si se aumenta la concentración de *P. mayor* en la combinación, probablemente habrá un aumento de la actividad antibacteriana, contra el *S. aureus*, el extracto de *P. mayor* mostró interacción con el antibiótico, ya que, el tamaño de los halos formados fue mayor cuando el antibiótico se combinó con el extracto puro⁵.

Abd R. et al (Irak, 2012) evaluaron la actividad antibacteriana de dos plantas *Plantago major* y *Ceratonia siliqua*. Se aplicó la técnica de disco difusión en agar para probar actividades antibacterianas de los extractos metanólicos con diferentes concentraciones: 1000, 500, 250 y 125 mg / ml sobre seis cepas de bacterias entre ellas *Staphylococcus aureus*, se hicieron las siguientes diluciones como control negativo mientras que estreptomycin fue utilizada como control positivo, la actividad antimicrobiana se evaluó midiendo el diámetro de circulares alrededor del pozo. Se demostró que el extracto de *Plantago major* produce zonas de inhibición contra bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* sensible a la concentración que oscila entre 1000 y 125 (mg / ml), con halos de 20 ± 0.9 mm a 1000; 15 ± 0.7 mm a 500; 13 ± 1.0 mm a 250; 10 ± 0.6 mm a 125 mg/ml⁶.

Freitas A. et al (Brasil, 2002) Analizaron la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Plantago major* se utilizó el método de difusión en medio sólido, frente a doce aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, obtenidos de heridas abiertas de la piel, secreciones vaginales y de la orofaringe, el extracto fue estandarizado obteniendo una solución de concentración igual a 193,0 mg / ml. Los microorganismos fueron identificados a través de pruebas bioquímicas específicas y sus cultivos se mantuvieron en medio sólido Mueller-Hinton, la ciprofloxacino como antibacteriano en la concentración de 10,0 mg / ml, los microorganismos se mostraron sensibles al extracto, presentando halos de inhibición entre 10,0 y 13,0 mm y para el patrón ciprofloxacino entre 10,0 y 15,0 mm⁷.

Carrión E. et al (Cuba, 1998) estudiaron la sensibilidad en bacterias como *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus*, se usó la técnica: difusión en Agar, utilizando los extractos de hierbas medicinales como la yerba mora, caléndula, salvia y llantén, para la realización de los experimentos se tomaron 5 tubos de ensayo con 10 ml de solución salina a 0,9 %. El "llantén" *Plantago major* alcanzó un halo de medida de 17 mm en este estudio este halo se puede comparar con los halos de inhibición para estos microorganismos ante de la tetraciclina 18 mm, el *Staphylococcus aureus* resultó sensible a la acción de los extractos fluidos del llantén y la caléndula y una sensibilidad intermedia a la yerba mora⁸.

Crisanto A. et al (Perú, 2015) investigaron la actividad antibacteriana en vitro del extracto de etanólico de las hojas de *Plantago major*, utilizando los métodos de macro dilución y agar difusión en contra *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853. El extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* evidenció halos de inhibición de 20.3 mm y 20 mm a concentraciones de 12 mg y 6 mg respectivamente, los resultados de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de hojas de *P. major* fue de 1 mg/ml y de 4 mg/ml para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente, mostrando concentraciones bactericidas mínimas de 4 mg/ml y 32 mg/ml respectivamente⁹.

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

El *llantén* (*Plantago major*) es una hierba , que crece en terrenos húmedos, pastizales y terrenos mal drenados, presenta hojas largas aovadas, dispuestas como en pétalos de rosas; se unen formando una espiga y su fruto contiene semillas negras, brillantes y rugosas, es una de las plantas medicinales que se utiliza en nuestro medio, sus hojas y tallo corto se emplean como desinflamante, antiséptico y cicatrizante en forma externa para la cura de úlceras varicosas pústulas, llagas, también en vaginitis y hemorroides; en infusión por vía oral como expectorante de enfermedades respiratorias; cicatrizante de enfermedades digestivas como úlceras, gastritis incluso diarreas y en trastornos hepáticos y de vejiga. Las hojas se trituran obteniéndose un jugo que es utilizado en heridas, las semillas del *Plantago major* se emplean como un laxante suave. Unido al *matico* y *limpiaplata* se usa como anticanceroso¹⁰.

La infusión como tratamiento es colocar dos hojas del *Plantago major* en un litro de agua recién hervida, con tomas de dos a tres veces al día. Para su uso externo en lesiones de piel y úlceras varicosas puede ser a manera de infusión o en compresas hechas en base al jugo de hojas de *llantén* que fueron trituradas y exprimidas. También el *Plantago major* es emoliente y antiinflamatorio. Tener precaución y cuidado de infusiones muy concentradas ya que en embarazadas puede ser antihipertensivo y laxante. No sustituye el tratamiento médico pero alivia síntomas. En el caso de su poder cicatrizante en enfermedades como gastritis y úlceras, tiene un aval de estudios clínicos realizados, los cuales afirman su acción contra bacterias en piel y mucosas; además que disminuye impurezas en sangre e incluso vuelve tersa la piel ¹⁰.

Las hojas, radicales y dispuestas en una roseta basal, tienen de tres a siete nerviaciones

longitudinales convergentes, un limbo ampliamente oval y sus flores son pequeñas, campanuladas, con 4 lóbulos, blancas o purpureas, imbricadas y numerosas, agrupadas en una densa espiga cilíndrica, ovoide o globulosa. El fruto es un píxidio que tiene de 4 a 16 semillas pardas y ovoides todo ello características de *Plantago major*.¹¹

Las hojas frescas del *Plantago major*, además de tratar heridas van a favorecer una epitelización adecuada, por estas propiedades la hacen muy apropiada para el tratamiento de otras anomalías de la piel, como dermatitis, llagas, pústulas, etc.¹².

Se emplea en bebidas como astringente que ayuda en caso de diarrea, disentería y males estomacales. El *Plantago major* es un antiinflamatorio, es un antitérmico, expectorante efectivo en dolores medianos, gripes y bronquitis. El reconocimiento de este vegetal como diurético para eliminar las retenciones de orina, purificador de la sangre, además de ser digestivo. Sus raíces se utilizan para calmar el dolor de muelas y de los oídos¹².

De las hojas de *Plantago major* se han aislado los siguientes compuestos: Fenoles, flavonoides, glucósidos, iridoides, monoterpenos, componentes fenólicos, taninos. En 100 g de hoja: Calorías, proteína, grasa, carbohidratos, cenizas, minerales: calcio, fósforo, hierro, sodio, potasio; b-caroteno; aminoácidos: riboflavina, niacina; vitamina c; carbohidratos: mucílagos, resina, gomas; saponinas; alcaloides. Casi el 15% de adultos sanos presentan en la cavidad nasal y la faringe *Staphylococcus aureus* llamándose portadores, la incidencia de esta bacteria es alta en el personal de salud y enfermos hospitalizados, en pacientes con enfermedades eruptivas de la piel y en aquellas personas que emplean agujas repetidas veces por ejemplo en drogodependientes o pacientes diabéticos insulino-dependiente o que cursan con tratamientos de hemodiálisis.¹²

Los estafilococos son microorganismos sensibles a temperaturas elevadas, desinfectantes y soluciones antisépticas; a pesar de ello, estas bacterias sobreviven varios días en superficies secas y puede transmitirse por los fómites o por contacto directo a alguien susceptible. Por lo expuesto, el personal de salud debe protegerse mediante un procedimiento sencillo como lavado de manos para no transmitir la bacteria a sus pacientes o en todo caso entre los pacientes. El cuadro clínico de la mayoría de patologías que produce esta bacteria se debe principalmente a su toxina y otras a la proliferación de estas, formándose abscesos y presentando destrucción de tejidos como por ejemplo en neumonía, empiema, forúnculos, foliculitis, impétigo, artritis séptica, endocarditis y osteomielitis; siendo el impétigo que se da en su mayoría en niños pequeños y las lesiones son

frecuentes en cara y extremidades. Los *estafilococos* han creado una resistencia antibiótica, se dice que, el único antibiótico que había mantenido su acción es la vancomicina, presentando una eficacia frente a *Staphylococcus resistentes a penicilina*. Algunas cepas de *S. aureus* están haciendo resistencia a la vancomicina, motivo por el cual se realizan trabajos en busca de alternativas de tratamiento ¹³.

La variedad de *Staphylococcus* tiene un amplio abanico de cepas. Las 3 cepas de mayor importancia clínica son: *S. aureus*, *S. Saprophyticus* y *S. epidermidis*. El *S. aureus* es una coagulasa positivo, que la caracteriza de otras especies siendo el *S. aureus* un patógeno relevante en el ser humano. La mayoría de las personas experimentan algún tipo de infección por *S. aureus* en algún momento de su vida, con distintos grados en severidad desde una intoxicación alimentaria o también desde infecciones cutáneas leves hasta infecciones graves que ponen en riesgo la vida. El *S. aureus* es una bacteria invasiva que produce coagulasa y produce un pigmento amarillo y a tener presentación hemolítica. La mayor parte de las personas albergan *estafilococos* en la nariz, faringe y la piel. Aun cuando la piel se pueda limpiar de estafilococos por ejemplo en el caso de eccema, la reinfección por esta bacteria a través de las gotículas ocurrirá casi de forma inmediata, como estos patógenos suelen diseminarse de una lesión a otro lugar de la piel, por los dedos y las prendas de vestir, cabe resaltar técnica de antisepsia local cuidadosa para controlar la forunculosis recidivante para no agravar el cuadro clínico ¹⁴.

En la actualidad se ha incrementado la concentración mínima inhibitoria del antibiótico de vancomicina entre muchas cepas de *Staphylococcus aureus resistente a la meticilina* (MRSA), muestras realizadas en pacientes hospitalizados, ha hecho que se busquen tratamientos alternativos ante estas bacterias resistentes. Entre los medicamentos alternativos para el tratamiento de la bacteriemia por MRSA y la endocarditis están los antimicrobianos más recientes como la daptomicina, quinupristina-dalfopristina, linezolid. Todos ellos compuestos bactericidas de gran eficacia y que ofrecen alternativas cuando las alergias imposibilitan el empleo de otros fármacos o cuando la infección del paciente parece no estar respondiendo clínicamente. Sin embargo, el empleo de estos fármacos debe ser manejado por el personal de infectología y farmacéuticos, ya que producen efectos adversos y la farmacocinética de estos medicamentos, es singular que estos profesionales realicen un manejo adecuado y controlado ¹⁴.

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” tiene mayor efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* comparado con ciprofloxacino 5 µg, en estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La medicina alternativa como cúmulo de conocimientos almacenados que forman parte del bagaje sociocultural de las comunidades, hace uso de vegetales y experiencias propias de diferentes culturas, son prácticas no invasivas y tampoco peligrosas para el organismo que no sólo ayudan a su curación sino que además no generan otros daños o secuelas. Nuestro país tiene una variada riqueza de vegetales que son utilizados como medicamentos que sirven como agentes paliativos o de tratamiento en muchas patologías de diversa índole. A pesar que ya se tiene conocimiento de las propiedades farmacológicas de muchas plantas, aún existe gran cantidad por descubrir.

Se tiene conocimiento de la actividad antimicrobiana de varios vegetales, uno de ellos, el llantén (*Plantago major*), ha sido poco estudiado como agente antibacteriano, especialmente la acción de sus aceites esenciales contra *Staphylococcus aureus*. Se tiene reportes de la actividad antibacteriana del extracto de llantén, mas no de los aceites esenciales. Por ello, se pretende ahondar en el estudio de ellos.

Con el presente trabajo de investigación realizado sea un aporte y uno de los estudios a considerar para que se opte como tratamiento alternativo de patologías producidas por esta bacteria, especialmente aquellas afecciones de la piel y anexos, en donde el *Staphylococcus aureus* es uno de los principales agentes de las piodermias difícil de tratar, ya que muchos fármacos utilizados en su tratamiento producen efectos adversos.

1.6 HIPÓTESIS

H₁: El aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* comparado con ciprofloxacino 5 µg, en estudio in vitro.

H₀: El aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” no tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* comparado con ciprofloxacino 5 µg, en estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con ciprofloxacino a 5 µg en estudio in vitro.

1.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Plantago major* sobre *Staphylococcus aureus* al 25%.
- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Plantago major* sobre *Staphylococcus aureus* al 50%.
- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Plantago major* sobre *Staphylococcus aureus* al 75%.
- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Plantago major* sobre *Staphylococcus aureus* al 100%.
- Determinar el efecto antibacteriano de ciprofloxacino a 5 µg.

II. MÉTODO.

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Tipo de Investigación: Básico ¹⁵

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

La presente investigación, es de diseño experimental con repeticiones múltiples ^{15,16}.

RG ₁	X ₁	O ₁
RG ₂	X ₂	O ₂
RG ₃	X ₃	O ₃
RG ₄	X ₄	O ₄
RG ₅	X ₅	O ₅
RG ₆	X ₆	O ₆

En donde:

RG₁₋₆: Cepas de *Staphylococcus aureus* elegidos al azar.

X₁: Tratamiento con aceite esencial de llantén al 100%

X₂: Tratamiento con aceite esencial de llantén al 75%

X₃: Tratamiento con aceite esencial de llantén al 50%

X₄: Tratamiento con aceite esencial de llantén al 25%

X₅: ciprofloxacino a 5 µg.

X₆: Suero fisiológico (control).

O₁₋₆: Mediciones del efecto antibacteriano.

2.2. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

Variable independiente: Tratamiento antimicrobiano

- Aceite esencial de *plantago major* al 25%,50%,75%,100%.
- Ciprofloxacino 5 µg.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano.

- Si efecto antibacteriano ($\geq 21\text{mm}$)
- No efecto antibacteriano ($\leq 21\text{mm}$)

Operacionalización de variables:

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Esquema de tto para <i>Staphylococcus aureus</i>	<p>Para el tratamiento para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 se utiliza:</p> <p>Tratamiento no farmacológico con aceite esencial de la hoja de <i>Plantago major</i> “llantén”</p> <p>Tratamiento farmacológico con ciprofloxacino.¹⁷</p>	<p>La población será dividida en los siguientes grupos:</p> <p>a) Dilución del aceite esencial de <i>plantago major</i> al 25%,50%,75%,100%.</p> <p>b) ciprofloxacino 5 µg.</p> <p>c) Suero fisiológico</p>	<p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p> <p>RG5</p> <p>RG6</p>	Cualitativa nominal
V. D: Efecto Antibacteriano contra <i>Staphylococcus aureus</i>	<p>Acción de una sustancia o compuesto con características propias para controlar la reproducción bacteriana, de forma que puede actuar como bactericida o bacteriostático.¹⁸</p>	<p>Medición del diámetro del halo de inhibición, de acuerdo al método de disco difusión en agar y tomando como referencia los estándares M02-A11³ y M100-S25⁴ del CLSI.²⁰</p> <p>Diámetro de la zona de inhibición</p> <p>Sensible $\geq 21\text{ mm}$</p> <p>Intermedio 16-20 mm</p> <p>Resistente ≤ 15</p>	<p>Si efecto antibacteriano ($\geq 21\text{mm}$)</p> <p>No efecto antibacteriano ($\leq 21\text{mm}$)</p>	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACION:

Se consideró como población a todas las cepas de *Staphylococcus aureus* cultivadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo.

MUESTRA:

Tamaño muestral:

Por tratarse de un trabajo experimental, se empleó la fórmula estadística de diferencia de promedios sobre halos de inhibición, para el cálculo el número de placas que validen el diseño experimental. (Ver Anexo 01)

Unidad de análisis:

Cada una de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Unidad de muestra:

Cada placa Petri con los cultivos.

Muestreo: Aleatorio simple.

CRITERIOS DE SELECCIÓN: Se consideró los siguientes criterios

Criterios de inclusión:

- Todas las cepas de *Staphylococcus aureus* cultivadas entre 18 a 24 horas.

Criterios de exclusión:

- Cultivos de cepas de *Staphylococcus aureus* contaminadas.
- Cultivos de cepas de *Staphylococcus aureus* inertes.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Consistió en la observación del crecimiento de las colonias de *Staphylococcus aureus*.

PROCEDIMIENTO: Ver anexo 3

- a. Certificación de la planta por parte del Herbario Antenor Orrego –UPAO de Trujillo.

- b. Extracción del aceite de *Plantago major*. Con el método de arrastre de vapor de agua
- c. La técnica de cultivo empleada fue Agar Mueller-Hinton como medio de cultivo.
- d. La Evaluación de la sensibilidad fue con el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar y el método de macrodilución²¹.

INSTRUMENTO:

Se utilizó una ficha de recolección de datos, considerando a las variables de estudio de acuerdo con los criterios del estándar M100S 26th edición del CLSI ¹⁹. Se registra en la ficha: número de placa, las diluciones y controles positivo y neutro, los respectivos halos de inhibición por cada dilución. (Anexo 4)

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

La ficha de recolección de datos fue validado por opinión de tres profesionales uno en medicina y 2 en Microbiología y se tuvo en cuenta los criterios de la Tabla 2C del documento M100S26 está validado mundialmente por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio de Estados Unidos de América.²⁰

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos en los resultados se tabulados en el programa Microsoft Excel 2013 y se sometieron a pruebas estadísticas en el Software estadístico SPSS v22. Se consideró el análisis estadístico de varianza con ANOVA y prueba post ANOVA para determinar la homogeneidad de los grupos estudiados.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS:

El estudio se realizó respetando los criterios de bioseguridad en el laboratorio con las personas y con el medio ambiente. Se considerará los protocolos de tratamiento de material potencialmente infeccioso y no exposición al peligro de las personas.

III. RESULTADOS.

Tabla 1: Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” y ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* estudio in vitro.

DATOS DESCRIPTIVOS

Tratamiento	Media	95% de IC para la media		Me	DE	Mín	Máx	Rango
		LI	LS					IC
25	10.0	9.5	10.5	10.0	0.8	8.0	11.0	0.5
50	11.9	11.5	12.4	12.0	0.8	11.0	14.0	0.5
75	16.4	15.9	16.9	16.0	0.9	15.0	18.0	1.0
100	18.4	17.8	19.0	18.0	1.0	17.0	20.0	1.5
Ciprofloxacino	34.6	34.1	35.1	35.0	0.9	33.0	36.0	1.0

DE=Desviación Estándar; Min=Mínimo; Máx=Máximo; Me = Mediana

Fuente: reporte de resultados del SPSS versión 25.

Tabla 2: Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con ciprofloxacino en estudio in vitro.

ANOVA

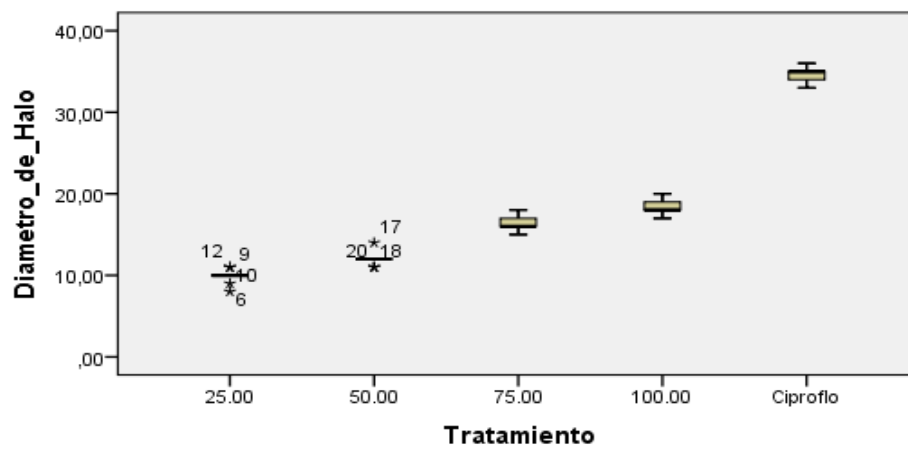
F Variación	Suma de	Media		F	Sig.
	cuadrados	Gl	cuadrática		
Entre grupos	4932.4	4	1233.1	1603	0.000
Dentro de grupos	46.2	60	0.8		
Total	4978.6	64			

Fuente: reporte de resultados del SPSS versión 25.

Tabla 3: Post Anova en la eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con ciprofloxacino en estudio in vitro.

POST ANOVA TEST DE TUKEY						
Subconjunto para alfa = 0.05						
Tratamiento	N	1	2	3	4	5
25	13	10.0				
50	13		11.9			
75	13			16.4		
100	13				18.4	
Ciprofloxacino	13					34.6
Sig.		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Fuente: reporte de resultados del SPSS versión 25.



Fuente: reporte de resultados del SPSS versión 25

GRÁFICO 01: Eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con ciprofloxacino en estudio in vitro.

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Plantago major* “Llantén” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con ciprofloxacino en estudio in vitro, se realizaron 13 cultivos por cada grupo de experimentación (78). Para ello, se identificó el tamaño de los halos de inhibición que se formaron como resultado de la actividad antibacteriana que ejerció el aceite esencial de llantén a cuatro concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%), se consideró un control negativo con agua destilada y control positivo a ciprofloxacino, considerando los procedimientos recomendados por el CLSI.

Se observa en la Tabla 1, que el ciprofloxacino tuvo en promedio una mayor zona de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, respecto a los obtenidos por las diferentes concentraciones del aceite esencial de llantén. Sin embargo, el diámetro promedio de la zona de inhibición alcanzado por el aceite esencial de *Plantago major* al 100% fue de 18.4mm, IC 95% (17.80 – 19.0) de un valor mínimo 17 mm y máximo 20 mm, comparado con el estudio realizado por Abd R. et al⁶, reportó gran variabilidad en los resultados de las cepas de *Staphylococcus aureus* estudiadas; cuyos halos de inhibición tuvieron como límite inferior 10 ± 0.6 mm y límite superior 20 ± 0.9 mm, a diferencia del presente estudio que se obtuvo 17.8 mm y 19.0 mm como límite inferior y superior respectivamente, con estos valores se considera que *Staphylococcus aureus*, es indiferente a este agente, tomando como referencia los estándares M02-A11 y M100-S25 del CLSI²⁰ ≤ 21 mm. Las diluciones del aceite esencial de llantén al 75%, 50% y 25%, tuvieron un efecto inhibitorio menor sobre *Staphylococcus aureus* dando valores que son considerados como resistente a este compuesto, a esas concentraciones según el CLSI. Freitas A. et al⁷, determinó que el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, frente a doce aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, los microorganismos se mostraron sensibles al extracto, presentando halos de inhibición entre 10,0 y 13,0 mm, con menor halo de inhibición que los obtenidos en el presente estudio.

La Tabla 02, refleja la evaluación estadística de los resultados, ya que al comparar el aceite de *Plantago major* en sus diferentes concentraciones sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* que mediante el análisis de varianza Anova se obtuvo un valor de $p < 0.01$ indicándose que el estudio fue estadísticamente altamente significativo entre los diferentes grupos de experimentación. En la Tabla 03, la prueba Post Anova de tukey nos muestra la homogeneidad de los grupos estudiados, así como la diferencia en relación al grupo que mostro mayor eficacia antibacteriana; a partir de la dilución de 50% a 100% la eficacia del aceite de *Plantago major* va aumentando, mostrando que

tiene cierto grado de efecto antibacteriano, pero no supera a ciprofloxacino. Lo mismo se evidenció en el estudio realizado por Teles DG.⁵, pues cuando analiza los halos, percibió que éstos aumentaban de tamaño, cuando se aumenta la concentración de *Plantago major*, obtuvo halos con una media de 15,3 mm, indicando que si se aumenta la concentración de *Plantago major*, aumento la actividad antibacteriana, contra el *Staphylococcus aureus*, con aceite esencial al 100%. Crisanto A. et al⁹ evidenciaron halos de inhibición de 20.3 mm y 20 mm probablemente las diferencias se deban a que utiliza la planta cultivada en el Perú y podría estar influyendo el medio ambiente, los nutrientes del terreno donde se desarrolla la planta, a diferencia de los otros estudios donde los halos de inhibición son menores. Las diferencias que se observan, lo determina la calidad de la planta, ya que *Plantago major* tiene componentes fenólicos, taninos y flavonoides que determina su efecto antibacteriano, sin dejar de lado la técnica de obtención del producto activo y el tipo de diluyente utilizado, que por ende hace que la actividad antimicrobiana pueda verse afectada.

V. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de *Plantago major* “llantén” tiene efecto antibacteriano, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *In vitro*, pero no supera la eficacia antibacteriana de ciprofloxacino.
- En relación a las concentraciones se encontró que a mayor concentración del aceite de *Plantago major* el halo de inhibición va aumentando así al 100% el halo fue de 18 mm.
- Las concentraciones de *Plantago major* “llantén” al 75%, el halo de inhibición fue de 16 mm.
- Las concentraciones de *Plantago major* “llantén” al 50 %, el halo de inhibición fue de 12 mm.
- Las concentraciones de *Plantago major* “llantén” al 25 %, no fue relevante.
- La concentración de ciprofloxacino, el halo de inhibición fue de 35 mm.

IV. RECOMENDACIONES

- Se puede ampliar el estudio combinando el aceite esencial de llantén con ciprofloxacino para potenciar el mayor efecto antibacteriano.
- Se sugiere evaluar el efecto del aceite esencial de llantén sobre *Staphylococcus aureus*, en modelos roedores.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. [Sede web]. Ginebra: OMS; 2002. [Citado 10 sep 2016] Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf
2. Mejor con Salud. El uso del Llantén, una hierba milenaria. [Sede web]. [Citado 16 sep 2014]. Disponible en: <http://mejorconsalud.com/el-uso-del-llanten-una-hierba-milenaria>
3. Llantén Mayor: planta medicinal. [Citado 16 sep 2014] Disponible en: https://www.ecured.cu/Llant%C3%A9n_mayor
4. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de Plantago major (Llantén Mayor) Blanco B. [Sede web]. 2007 [citado 16 sep 2016]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4835550.pdf>
5. Tales DG y Costa MM. Estudo da ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (Plantago major L., Plantaginaceae) e Romã (Punica granatum L., Punicaceae) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina in vitro. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, 2014; 16(2) supl. I: 323-328. [Citado 16 sep 2016] Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n2s1/03.pdf>
6. Basma Monjd Abd Razik , Hiba Ali Hasan , Muna Khalil Murtadha The Study of Antibacterial Activity of Plantago Major and Ceratonia Siliqua The Iraqi Postgraduate Medical Journal VOL.11, NO.1, 2012 [citado 18 jun 2017] Disponible en: <http://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&ald=30208>
7. Freitas AG, Costa V, Farias ET, Lima MCA, Sousa IA, Ximenes E. A. Actividade antiestafilocócica do Plantago major L. Rev. Bras. Farmacogn. 2002. [citado 7 Oct 2016]: 12, Supl.: 64-65. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v12s1/a31v12s1.pdf>
8. Carrión E, Robles L, García L. Acción antimicrobiana de extractos fluidos de plantas medicinales. CCM [serie en internet]. 1998. [citado 7 Oct 2016]: 2(3). Disponible en: <http://www.cocmed.sld.cu/no23/n23ori1.htm>
9. Crisanto Ahuite, Amadeo; Reaño Rojas, César Denis Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de Plantago major (Llantén) frente a Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus, por el método de difusión de disco y macrodilución Universidad Nacional De La Amazonía Peruana [citado 18 Jun 2017]. Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3877/Crisanto_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1

10. Ministerio de Salud. Gobierno de Chile. MHT. Medicamentos Herbarios Tradicionales. 103 especies vegetales. PROTEGE. Red de Protección Social. [Citado 16 sep 2016] Pág. 99-100. Disponible en: <http://web.minsal.cl/portal/url/item/8da25ec6bc518db0e04001011f016739.pdf>
11. José Luis Berdondes. Gran Enciclopedia de las Plantas Medicinales Océano. Barcelona: España; 2004. 691 p.
12. Ecured. Llantén mayor. Enciclopedia cubana virtual. [Citado 18 sep 2016] Disponible en: https://www.ecured.cu/Llant%C3%A9n_mayor
13. Murray PR, Rosenthal KS y Pfaller MA. Microbiología Médica. 7ma. Ed. Edit. El sevier España SL. Barcelona, 2014.
14. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA y Mietzner TA. Microbiología Médica de Jawetz. 25va ed. McGraw-Hill Interamericana Editores Sa de CV. México DF. 2011.
15. Hernández R, Fernández C y Baptista P. Metodología de la Investigación. Sexta edición. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. México D.F. 2014. pp42-43
16. Bernal CA. Metodología de la Investigación. Tercera edición. Editorial Pearson Education, Colombia 2010. p145
17. Arraiza MP. Curso: Uso industrial de plantas aromáticas y medicinales. Tema 12: Análisis químico de plantas aromáticas. Universidad Politécnica de Madrid, 2009. [citado 16 sep 2016] p.109. Disponible en: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>
18. Murray PR, Rosenthal KS y Pfaller MA. Microbiología Médica. 7ma. Edición. Editorial Elsevier España, S.L. 2014. pp. 11-12.
19. Clinical and Laboratory Standars Institute – CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. CLSI document M02-A11. Enero 2012; 32(1): 9-13, 44.
20. Clinical and Laboratory Standars Institute – CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Enero 2015; 35(3): 64, 69.
21. Clinical and Laboratory Standars Institute – CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. CLSI document M07-A9. Enero 2012; 32(2): 10-19, 54.
22. Dawson B, Rober D, Trapp R, Bioestadística media. Manual moderno 3ª ed. 2002

VI. ANEXOS

ANEXO 01

TAMAÑO DE MUESTRA

$$n = \frac{\left(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}\right)^2 2\sigma^2}{\left(\bar{X}_1 - \bar{X}_2\right)^2}$$

$$Z_{\alpha/2} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$\bar{X}_1 = 21 \text{ mm}^{20}$$

$$\bar{X}_2 = 20 \text{ mm}^6$$

$$\sigma^2 = \pm 0.9^6$$

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 2(0.9)^2}{(21 - 20)^2}$$

$$n = 12.7$$

$$n = 13$$

ANEXO 02
CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 03-2019-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Pedro Daniel García García**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

Plantago major L. (Plantaginaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Plantago major* "llantén" sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 comparado con ciprofloxacino".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 29 de enero de 2019



Mg. Segundo Leiva González

Director

Museo de Historia Natural y Cultural

ANEXO 03

PROCEDIMIENTO

1. Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de *Plantago major* “llantén”, se obtuvieron en el mercado La Hermelinda de Trujillo, procedentes de la localidad de Otuzco, en una cantidad de 5 a 6 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).



2. Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Plantago major* se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció

en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización.

3. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 13 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.

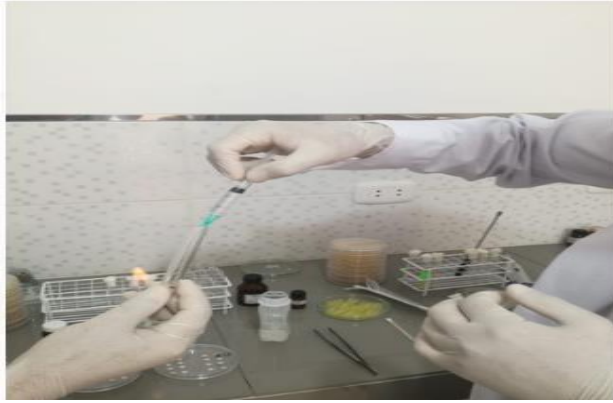


4. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.)



b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.



c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfoxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de AE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de AE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%.



d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μL de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 μL de AE al 50% en otro disco, 10 μL de AE al 75% en otro disco y 10 μL de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

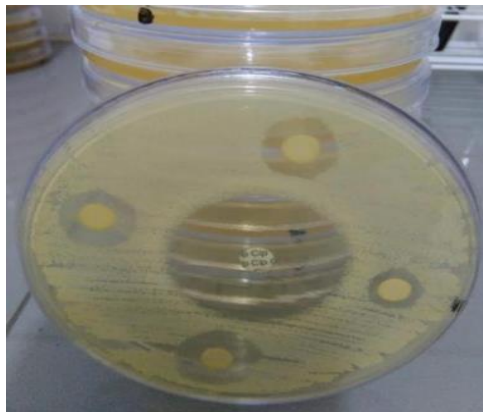
e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con ciprofloxacino (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona

de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Staphylococcus aureus* y para el ciprofloxacino. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.



ANEXO 04

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº	Aceite esencial de llantén				Ciprofloxacino	DMSO
	100%	75%	50%	25%		
1	19	17	12	10	34	0
2	20	16	12	11	36	0
3	17	16	12	10	34	0
4	18	15	14	10	33	0
5	19	18	11	10	35	0
6	19	17	12	9	35	0
7	17	17	11	10	35	0
8	18	17	11	10	34	0
9	18	15	12	11	35	0
10	18	16	12	8	35	0
11	19	17	12	10	34	0
12	20	16	12	11	36	0
13	17	16	12	10	34	0

ANEXO 5

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO <i>(Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)</i>		CONSTRUCTO <i>(Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)</i>		RELEVANCIA <i>(El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)</i>		COHERENCIA INTERNA <i>(El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)</i>		CLARIDAD <i>(El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)</i>		SUFICIENCIA <i>(Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)</i>	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1												
2												
3												

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES				SI	NO	OBSERVACIÓN
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos						
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación						
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial						
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir						
VALIDEZ						
APLICABLE		NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN		

Instrumento validado por:

Firma y sello

Firma y sello

Firma y sello

ANEXO 6

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
25	0.346	13	0.000	0.790	13	0.105
50	0.383	13	0.000	0.687	13	0.100
75	0.222	13	0.080	0.894	13	0.111
100	0.184	13	,200*	0.896	13	0.116
Ciprofloxacin	0.222	13	0.080	0.894	13	0.111

Comparaciones múltiples

Variable dependiente:

(I) Tratamiento			Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD	25	50	-1,92308*	0.34401	0.000	-2.8906	-0.9556
	Tukey	75	-6,38462*	0.34401	0.000	-7.3521	-5.4171
		100	-8,38462*	0.34401	0.000	-9.3521	-7.4171
		Ciproflox	-24,61538*	0.34401	0.000	-25.5829	-23.6479
50	25		1,92308*	0.34401	0.000	0.9556	2.8906
	75		-4,46154*	0.34401	0.000	-5.4291	-3.4940
	100		-6,46154*	0.34401	0.000	-7.4291	-5.4940
	Ciproflox		-22,69231*	0.34401	0.000	-23.6598	-21.7248
75	25		6,38462*	0.34401	0.000	5.4171	7.3521
	50		4,46154*	0.34401	0.000	3.4940	5.4291
	100		-2,00000*	0.34401	0.000	-2.9675	-1.0325
	Ciproflox		-18,23077*	0.34401	0.000	-19.1983	-17.2633
100	25		8,38462*	0.34401	0.000	7.4171	9.3521
	50		6,46154*	0.34401	0.000	5.4940	7.4291
	75		2,00000*	0.34401	0.000	1.0325	2.9675
	Ciproflox		-16,23077*	0.34401	0.000	-17.1983	-15.2633
200	25		24,61538*	0.34401	0.000	23.6479	25.5829
	50		22,69231*	0.34401	0.000	21.7248	23.6598
	75		18,23077*	0.34401	0.000	17.2633	19.1983
	100		16,23077*	0.34401	0.000	15.2633	17.1983

Prueba de homogeneidad de varianzas test de levene

Diámetro			
Estadístico de			
Levene	gl1	gl2	Sig.
1.633	4	60	0.178

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO DE TESIS



CONSTANCIA DE ASESORÍA DE TESIS

El que suscribe Mg. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

Da CONSTANCIA:


Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Proyectos de Tesis para obtener el Título Profesional Médico Cirujano, el alumno: García García Pedro Daniel, de esta casa de estudios, trabajó bajo mi asesoramiento el Proyecto de Tesis titulado: "Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Plantago major* "llantén" sobre *Staphylococcus aureus*, comparado con ciprofloxacina que será presentado para optar el Título anteriormente mencionado.

En tal virtud, asumí el asesoramiento de dicho proyecto, en calidad de Asesor TÉCNICO, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, en la Ciudad de Trujillo a los 30 días del mes de setiembre de del 2018.

Jaime A. Polo Gamboa
MICROBIOLOGO
(COP 8701)


CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE TESIS

**San Jose**
LABORATORIO CLINICO
Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio “San José” deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde el Sr. PEDRO DANIEL GARCÍA GARCÍA estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Plantago major* “llantén” sobre *Staphylococcus aureus*, comparado con ciprofloxacina”, durante los días 30 de agosto al 6 de setiembre de 2018, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 10 días del mes de setiembre de 2018.


José Luis Cailla Quevea
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO
C.B.P. 0301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - ☎ 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/